

山形医学 2007 ; 25 (2) : 61-63

第17回実験動物セミナー研究成果発表会抄録

Abstracts of the 17th Seminar of Laboratory Animal Center

2006年12月12日 山形大学医学部視聴覚教室

1. ヒト爪の免疫不全マウスの腎臓被膜下への移植によるヒト爪組織再生のための研究

菊地憲明, 大辻美和子*, 柏英雄**, 本間龍介* (山形大学医学部整形外科形成外科診療班, 同整形外科*, 山形県立日本海病院形成外科**)

【背景】完全なヒト爪組織の再生、培養法は確立されていない。我々はヒト爪の移植実験モデルを作製し、構成組織ごとの爪生成に関する役割を研究し、爪の移植・再生治療に向けた知見を得ることを目的とした。【方法】SPF/VAF Crj:CD-1 (ICR)-nu マウスの腎臓被膜下に、倫理規定に基づいて提供を受けた母指多指症の切除過剰指の Germinal (G), Sterile (S), Germinal-Sterile (GS), Germinal-Sterile-Dorsal (GSD) の各 matrix ごとに移植した。3日、1週、2週、4週、10週間目に摘出し、組織学的に観察した。【結果】移植爪は球状の細胞塊を呈した。S 単独移植群、GSD 移植群では爪甲形成は認められなかった。G 単独、GS 移植群で細胞塊中央に爪甲の形成が認められた。G 移植群で S matrix の分化が認められた。BrdU・PCNA・Feulgen 染色によって移植後の細胞分裂所見を確認できた。【結語】爪甲の産生は Germinal matrix からなる1層1源説だと考えられた。爪の研究の新しい実験系として本法は有用であることがわかった。今後の爪形成に必要な環境・条件と Stem cell の局在・関与の研究への発展が期待された。

2. ラット下垂体でのグルタミン酸合成分泌について

白澤信行, 孫英傑, 内藤輝 (山形大学医学部形態構造医学分野)

視床下部から門脈に放出される視床下部ホルモンや興奮性アミノ酸のグルタミン酸 (Glu) が下垂体前葉のホルモン分泌を制御するとされるが、我々は前葉細胞が Glu を合成分泌することを見出した。【材料と方法】Wistar 系ラットの下垂体を材料として、前葉のグルタミン酸代謝を解析した。【結果】1) 成熟雄ラットで Glu は TSH 細胞の Glutaminase によりグルタミン (Gln) から作られ、Glu トランスポーターで TSH 細胞の小胞に蓄積される。2) Glu は GH 細胞や LH 細胞の Glu-dehydrogenase によって 2-oxoglutarate に、FS 細胞の Gln- 合成酵素により Gln 等に変換される。3) LH 細胞も Glu 産生能があり、老齢化や精巣除去によって活性が上昇する。以上の結果から、下垂体前葉の TSH と LH 細胞で Glu が合成分泌され、その合成分泌は生理状態により変化することが示された。

3. 自己免疫性溶血性貧血のモデル・NZB マウスでは赤血球の酸化ストレスが充進している

三上剛, 井内良仁, 岡田太, 藤井順逸 (山形大学医学部生体分子機能学講座)

抗酸化酵素 Cu/ZnSOD を欠損する SOD1 KO マウスの解析から、赤血球の酸化ストレス増大が原因となって貧血ならびに自己抗体の産生が起る可能性が示唆された。そこで自己免疫性溶血性貧血の代

表的なモデルマウスである New Zealand Black (NZB) マウスにおける酸化ストレスと貧血との因果関係の解明を試みた。NZB マウスでは加齢に伴い自己抗体が増加し、50週齢前後から貧血を呈した。対照として用いた正常な NZW マウスに比べ NZB マウスでは、赤血球内の活性酸素量が貧血発症前から高値を示した。また NZB マウス赤血球では、メトヘモグロビン含量・過酸化脂質含量が増加していた。赤血球内活性酸素量と赤血球結合自己抗体の量ならびに貧血の程度が相関し、NZB マウスの自己免疫性溶血性貧血に赤血球の酸化ストレス上昇が関与する可能性が示唆された。

4. Glycosylphosphatidylinositol アンカータンパク質、GPI-80 の腫瘍増殖および転移に占める役割

小沼邦重, 仙道富士郎, 藤井順逸, 岡田太 (山形大学医学部生体分子機能学講座)

【目的】GPI-80 は、ヒト好中球の血管内皮への接着および遊離に関与する分子と考えられている。しかしその制御の詳細は不明である。これを明らかにするために、GPI-80 を癌細胞に強制発現させ、腫瘍増殖能および転移形成能を比較した。【方法と結果】pcDNA3.1 発現ベクターにヒト GPI-80 遺伝子を組み込み、これを C57BL/6 由来で高腫瘍原性・高転移性の線維肉腫細胞 (QRsP-11) に遺伝子導入した。遺伝子導入株と親 QRsP-11 細胞株を、正常同系マウスの皮下及び尾静脈内に移植した。GPI-80 発現と肺転移能は逆相関したが、皮下増殖能とは相関しなかった。GPI-80 遺伝子導入による肺転移能の抑制は、基質との接着を阻害した場合に観察されるスフェロイド凝集性増殖の喪失と、運動能の低下によることを見いだした。【総括】GPI-80 は、癌細胞の転移能を抑制する分子と推察された。

5. 活性型ミクログリアにおけるジアシルグリセロールキナーゼの発現

中野知之, 伊関憲*, 川前金幸*, 後藤薫 (山形大学医学部組織細胞生物学分野,*同急性期生体機能統御学分野)

ジアシルグリセロールキナーゼ (DGK) はプロテインキナーゼ C (PKC) の生理的活性化因子であるジアシルグリセロール (DG) のリン酸化酵素である。脳損傷後に形成される瘢痕組織にはミクログリア/マクロファージ、アストロサイト、オリゴデンドロサイト前駆細胞など多様な細胞が含まれ、その相互作用によって組織修復が行われる。本研究ではこの領域における DGK の発現を免疫組織化学的に解析した。

その結果、瘢痕領域の DGK 陽性細胞は Iba1 抗体と共陽性であり、活性化型ミクログリア/マクロファージであることが明らかとなった。次に cPKC 発現を免疫組織化学的に解析した結果、瘢痕組織には PKC α のみが検出され、GFAP 抗体と共陽性反応を示した。以上の結果から、瘢痕組織において DGK は活性化型ミクログリアマクロファージ系細胞に発現するが、この細胞では cPKC 情報伝達経路は作動しないと考えられた。

6. ラット大脳白質障害後の神経機能再生におけるオリゴデンドロサイトの役割、再髄鞘化の重要性

千田裕一郎, 小久保安昭, 松森保彦, 久下淳史, 竹村直, 佐藤慎哉, 嘉山孝正 (山形大学医学部神経機能再生学講座)

【目的】大脳白質障害後の神経機能再生におけるオリゴデンドロサイト (OLG) の役割を明らかにすること。【方法】SD ラット (雄、 230 ± 20 g) 永久両側総頸動脈結紮により慢性脳虚血モデルを作製し、術後 2、4、6、8 w において脳梁における抗 NG2 抗体 (未熟 OLG のマーカー)、抗 GST- π 抗体 (成熟 OLG のマーカー) 免疫染色、並びに抗 MBP 抗体 (髄鞘のマーカー) を用いた western-blot により経時的検討をした。また認知機能評価を水迷路試験にて行った。【結果・考察】虚血群では OLG 及び髄鞘の減少により大脳白質障害を呈した。未熟 OLG が増加し OLG は 2w で減少後増加を認めたことから、OLG の再生が考えられたが脱髄後の再髄鞘化は見られなかった。また認知機能障害は虚血群全週において認められた。以上より認知機能障害は残存しており脱髄との相関が示唆された

7. マウス心筋における endothelin-1 の Ca^{2+} 感受性に対する作用

西丸和秀, 遠藤政夫 (山形大学医学部循環薬理学分野)

一般に Endothelin-1 (ET-1) は収縮タンパクの Ca^{2+} 感受性を増大させて陽性変力作用を示すが、マウス心室筋では ET-1 の陰性変力作用が観察される。その機序解明を目的として、マウス心室筋細胞を用いて、生理的な twitch 収縮および持続性の tetanus 収縮の条件下における ET-1 の作用について比較検討を行った。その結果、ET-1 はおそらく収縮速度の遅延を伴って Ca^{2+} 感受性を増大させる事、およびマウス心筋の生理的条件下においては細胞内 Ca^{2+} 上昇の持続時間は非常に短いため、ET-1 の Ca^{2+} 感受性増大作用は収縮速度の遅延にマスクされてしまい、それによる「見かけ上の Ca^{2+} 感受性低下」が ET-1 の陰性変力作用に関与している事が示唆された。

8. 食餌性高コレステロール血症ラットの血管機能に対するポリフェノール化合物含有赤ワイン凍結乾燥品 (RWPC) の影響

栗田美幸, 三上恵理子, 山田晃子, 小林優子, 村田恵理, 石幡明*, 片野由美 (山形大学医学部看護学科,*奥羽大学薬学部)

我々は赤ワイン含有ポリフェノール化合物 (RWPC) の長期投与 (2および3ヶ月間) が、内皮由来血管拡張因子の産生遊離促進作用を介して血管保護作用を示すことを報告した。本研究では、RWPC をどの程度の期間経口投与すると血管保護効果を示すかを明らかにするために、1ヶ月間 RWPC を投与してその効果を検討した。F344 rat から摘出した内皮無償および除去胸部大動脈標本を作製し、アンジオテンシン II (AII) による血管収縮作用を比較した。本実験はプロスタノイドの影響を除去する目的で、全てジクロフェナック存在下で実験した。内皮無償標本では、対照群、コレステロール (Cho) 群、RWPC+コレステロール (RWPC) 群の AII 収縮作用に有意差はなかった。内皮除去は AII 収縮作用を増強したが、Cho 群の増強作用は他の2群に比べ弱かった。これは、AII の血管平滑筋収縮作用をコレステロール摂取が減弱させるが、RWPC はこの減弱作用を回復させることを示唆している。

9. 「老化とポリフェノールの冠循環改善効果」-第4報

高コレステロール血症ラットにおけるポリフェノール化合物含有赤ワイン凍結乾燥品 (RWPC) の長期投与と効果

植村舞子, 石垣あかり, 村田恵理, 小林優子, 山田晃子, 石幡明*, 片野由美 (山形大学医学部臨床看護学講座,*奥羽大学薬学部)

ポリフェノール化合物 (RWPC) をどの程度の期間経口投与すると冠血管拡張効果や血小板機能改善効果を示すかを明らかにするために、F344 rat に1ヶ月間 RWPC を投与して冠循環改善効果を検討した。その結果アンジオテンシン II による一過性の冠流量 (CF) 減少には、対照群、コレステロール (Cho) 群、RWPC+コレステロール (RWPC) 群に有意差はなかった。一方エンドセリン-1 (ET-1) は持続的な冠血管収縮を起こした。投与後 Cho 群では CF が減少し続けるのに対して、RWPC 群では減少抑制が見られた。Cho 群の血小板凝集反応は対照群に比べ亢進したが、RWPC 群では対照群と差がなかった。以上より、RWPC は1ヶ月間のみの投与によっても ET-1 などによる強い血管収縮作用を緩和することが示唆された。さらに RWPC は高コレステロール血症による血小板凝集能亢進を抑制する作用をも示し、循環保護効果をもたらすことが示唆された。

第23回山形電気生理研究会抄録

Abstracts of the 23rd Meeting of Yamagata

Electrophysiological Research Group

平成18年11月10日(金) 山形大学医学部第3講義室

一般演題

1. 座長：川並透 (山形大学医学部生命構造内科学分野)

「デジタル動画・波形実時間同期収録装置 The Teraview の紹介」

鈴木克彦, 長沼誠*, 内藤輝*, 外川佑, 藤田貴昭, 佐藤寿晃, 藤井浩美, 寒河江正明, 仲野春樹**, 加藤勝彦*** (**山形大学医学部形態構造医学分野, 山形県立保健医療大学作業療学科, 山形大学医学部運動機能再建回復学分野, ***ギガテックス有限会社)

我々は、ギガテックス社 (大崎) と共同で、デジタルビデオカメラ (30 コマ / 秒) 3 台の画像と音声を用いた IEE1394, 32ch のアナログ (A) またはデジタル電気信号 (D) (16ch で 6.2 kHz, 32ch で 3.1 kHz まで対応) をそれぞれ A/D コンバータと RS232C を介してパソコンに記録する装置を開発し、本年 4 月より The Teraview (商品名) として販売を始めている。同装置では、画像が記録時には電気信号 (実時間) よりも 3-4 コマ (100-133 ms) 遅れるものの、再生時には 1 コマ (33 ms) 以内の誤差で表示されるようになっていく。今回、同装置を用いて母指手根中手関節の描円運動と寝返り運